

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 61-234347

(43)Date of publication of application : 18.10.1986

(51)Int.Cl.

G01N 27/26

G01N 33/50

G01N 33/58

(21)Application number : 60-074229

(71)Applicant : HITACHI LTD

(22)Date of filing : 10.04.1985

(72)Inventor : KANBARA HIDEKI

TOKITA JIRO

OGAWA YUKIKO

WATABE KENICHI

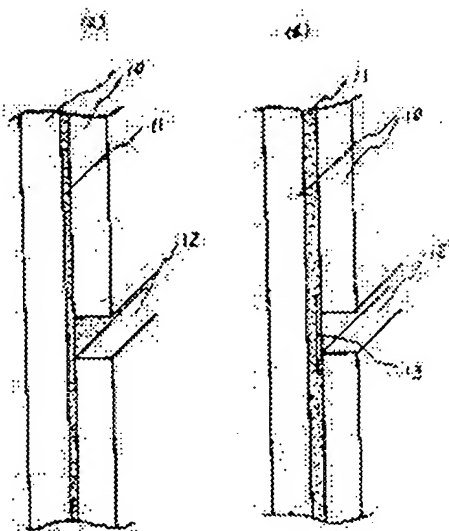
SHIMADA TAMOTSU

## (54) ELECTROPHORETIC PANEL

## (57)Abstract:

PURPOSE: To determine a base sequence on DNA, by providing a hollow window at a part of a glass plate for an electrophoretic panel for holding gel for electrophoretic separation to detect  $\beta$  rays emitted directly from the DNA whereon radioactivity is labelled.

CONSTITUTION: An electrophoretic panel for use in the separation and detection of a DNA fragment for determining a base sequence on a DNA is formed with a gel 11 for electrophoretic separation between two glass plates 10 while it is formed by providing the glass plate 10 in the direction at the right angle to an electrophoretic and providing a thin film 13 allowed to pass through  $\beta$  rays in contact with the part where a window 12 is in contact with the gel 11.  $\beta$  rays from the DNA migrating in the gel 11 are detected directly to determine a base sequence on the DNA. This can produce an electrophoretic panel dispensing with any autoradiography or the like while in noway impairing the function as separation plate.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the  
examiner's decision of rejection or application  
converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of  
rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭61-234347

⑮ Int.Cl.<sup>4</sup>G 01 N 27/26  
33/50  
33/58

識別記号

庁内整理番号

G-7363-2G  
P-8305-2G  
8305-2G

⑬ 公開 昭和61年(1986)10月18日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑭ 発明の名称 電気泳動パネル

⑰ 特 願 昭60-74229

⑱ 出 願 昭60(1985)4月10日

⑲ 発 明 者 神 原 秀 記 国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内

⑲ 発 明 者 鴫 田 二 郎 国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内

⑲ 発 明 者 小 川 裕 紀 子 国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内

⑲ 発 明 者 渡 部 健 一 国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内

⑲ 出 願 人 株式会社日立製作所 東京都千代田区神田駿河台4丁目6番地

⑲ 代 理 人 弁理士 小川 勝男 外1名

最終頁に続く

## 明 細 書

発明の名称 電気泳動パネル

特許請求の範囲

1. 放射性ラベルされたDNAを直接検出するため一部に中空の窓を持ったガラスでゲルを保持した電気泳動パネルを具備することを特徴とする電気泳動パネル。

2. 前記ガラスを部分的にフィルムなどで覆い、中空の窓をゲルに接する側からふさいだ事を特徴とする特許請求の範囲第1項に記載の電気泳動パネル。

3. ゲルに接するガラス面とゲルに接するフィルム面が同一平面をなすことを特徴とする特許請求の範囲第1項または第2項に記載の電気泳動パネル。

発明の詳細な説明

(発明の利用分野)

本発明はDNA上の塩基配列決定用DNAフラグメント分離検出に用いる電気泳動パネルに関するものである。

## 【発明の背景】

DNA上の塩基配列決定には、まず、目的とするDNAを増殖した後、生化学的手法を用いて、DNAを構成する四種の塩基アデニン(A)、チミン(T)、シトシン(C)、グアニン(G)の所で特異的に切断する。そして定まった末端を含み、いろいろなアデニン位置で切断され、かつ、<sup>32</sup>Pなどの放射性元素でラベルされた試料群を生成する。グアニン、チミン、シトシンについても同様の試料群を生成する。第1図は目的とするDNAの模式的な配列と各試料群に含まれるDNAフラグメントの様子を示した。これらを各試料群毎に別の泳動路上に装填して電気泳動させる。小さなDNAフラグメントほど泳動速度が大きいので長い距離泳動する。一定時間泳動させた後で、オートラジオグラフィーを撮り、長い距離泳動したものから順に読む事により塩基配列が決定される。この様子を図2に示した。泳動レーンから塩基の種類がわかる。しかし、この方法ではオートラジオグラフィーに時間と手間がかかる上、泳動

してから結果がわかるまで数日かかるなど塩基配列を迅速に決定できない難点があつた（蛋白質・核酸・酵素 J. V. O. J., No 3 (1978)）。

そこで、泳動していく DNA フラグメントから出る  $\beta$  線を直接検出する提案がなされている。しかし、 $\beta$  線はゲルを保持しているガラス板（5 mm 厚）を通過できないので通常の泳動板を用いる事はできない。 $\beta$  線を透過できる窓をもつ泳動パネルが必要であつた。

#### 〔発明の目的〕

本発明の目的は、上記要求を満足し、分離板としての機能を保たない分離検出用電気泳動パネルを提供することにある。

#### 〔発明の概要〕

上記目的を達成するために本発明では、泳動パネル用ガラス板の一部をくりぬき窓を設け、そこを薄くて  $\beta$  線透過率の高い被膜でおおう事により問題を解決している。

#### 〔発明の実施例〕

以下、本発明の一実施例を第 3 図により説明す

10 mm 以下であり、DNA バンドの乱れはほとんど無視できる。フィルムの厚さは 0.1 mm 以下であり、 $\beta$  線の損失も無視できる位少ない。通常ゲルの厚さは 0.5 mm でありフィルムをはる事によりその部分の厚みは小さくなるが図の例のように片側だけの場合には実用上支障はない。一方、検出する  $\beta$  線量を増やし、検出の S/N を上げようとする時、ゲルの両側に検出器を装着する事が望ましい。この場合、両面にフィルムを貼る事により検出部のゲル厚は 0.3 mm 程度となり他の部分に比べて薄くくびれる様になる。このためこの部分で電界の乱れなどが生じ測定上支障が生じる事がある。これを防止するために第 4 図に示したようにガラスにフィルム厚に相当する段差を設ける事が有効である。また、第 5 図はフィルムを窓の内側に貼った例である。これらの例ではゲルの厚みを均一とすることができるので検出器を両面に設置する場合にも泳動帯が乱れない利点がある。

#### 〔発明の効果〕

以上本発明によればラベル DNA から出る  $\beta$  線

る。泳動分離用のゲルは二枚のガラス板にはさんだ状態で使用するが、ガラス板には泳動路と直角方向に並んだ窓が設けてある。ゲル中を泳動する DNA から出る  $\beta$  線は 5 mm のガラス板を通過することはできないが、この窓から外へ取り出して計測する事ができる。この窓はガラス板に穴をあけただけでも良いが、その場合には泳動用バッファ液がたまつたりして事故の原因となる事が多い。そこで第 3 図 (b) に示したようにゲルに接する側の一部を  $\beta$  線を十分に透過する薄いフィルムで覆い、この難点を解決している。ガラス板の全面をフィルムで覆つたり、フィルムではさまれたゲルを利用したりする事も考え得るが、フィルム表面の化学的な性質により、これらでは再現性良く、良質のゲルを作る事はできない。この結果、DNA バンドがぼけたり、強度が低下したりする現象が見られる。これは DNA バンドがフィルム部分を通過する長さが長いほど顕著になる。そこで、窓をおおうのに必要最小限の巾のフィルムをガラス面にはつた例が第 3 図である。フィルムの巾は

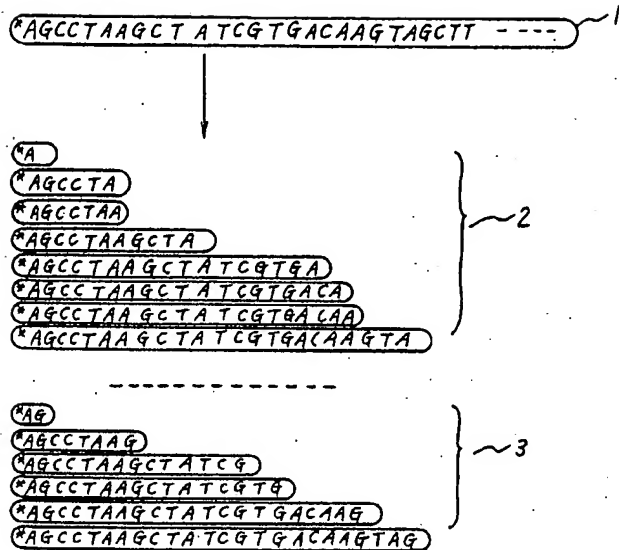
をオートラジオグラフィなどによるのでなく直接検出し、DNA 上の塩基配列を決定できる。

#### 図面の簡単な説明

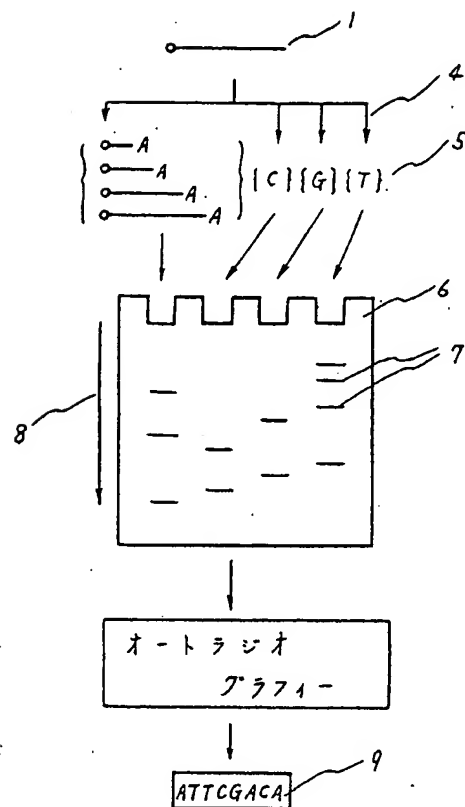
第 1 図は配列決定する DNA と断片群を示す図である。第 2 図は DNA 配列決定の従来法の例を示す図である。第 3 図は本発明による  $\beta$  線検出用の窓を持つ電気泳動パネルを示す図である。特に第 3 図 (a) はゲル露出型、第 3 図 (b) はフィルム貼付型である。第 4 図はフィルム厚分だけガラスをへこました例を示す図である。第 5 図はフィルムを窓に落とし込んだ型の例を示す図である。1…配列決定しようとする DNA、2…特定の末端を持ち A で切断された断片群、3…特定の末端を持ち G で切断された断片群、4…切断生化学反応プロセス、5…断片群、6…ゲル電気泳動板、7…DNA フラグメントバンド、8…泳動方向、9…決定された DNA 配列、10…泳動用ガラス板、11…ゲル、12… $\beta$  線検出用窓、13…遮蔽フィルム、14…接着剤。

代理人 井理士 小川勝男

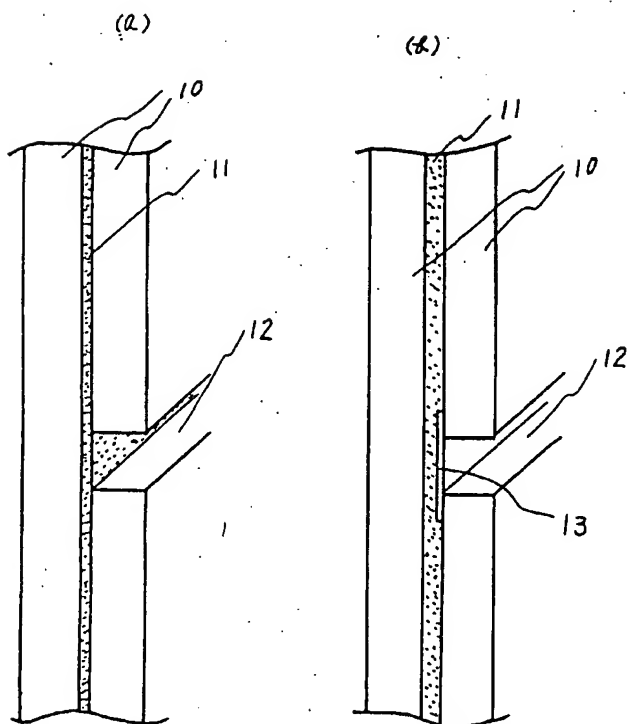
第 1 図



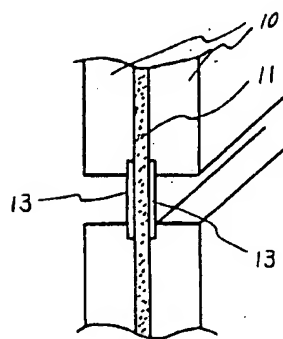
第 2 図



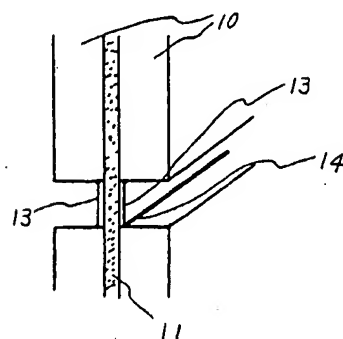
第 3 図



第 4 図



第 5 図



第1頁の続き

⑫発 明 者 嶋 田

保 国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地 株式会社日立製作所中  
央研究所内